

**Rapport de mission d'appui dans du Projet Régional  
FED-ACP-RPR 269 "Recherche sur l'amélioration et la  
gestion de la jachère en Afrique de l'Ouest"  
- Volet Côte d'Ivoire -**

**du 11 au 21 Octobre 1995**

Etude des associations symbiotiques dans les essais  
agroforestiers réalisés dans les Stations d'Oumé et de  
Korhogo en Côte d'Ivoire

---

**Didier LESUEUR et Marc DUCOUSSO**  
Laboratoire commun CIRAD-Forêt/ORSTOM  
de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales

---

CIRAD-Forêt  
Département Forestier du CIRAD  
BP5035  
34032 MONTPELLIER Cedex  
(France)  
Mars 1996

## Sommaire

<b>Objet de la mission</b>	<b>page 4</b>
<b>Remerciements</b>	<b>page 5</b>
<b>Déroulement de la mission</b>	<b>page 6</b>
<b>1<sup>ère</sup> PARTIE : Travail effectué sur la station de Oumé</b>	<b>page 8</b>
<b>1) Essai Jachère 1990</b>	<b>page 8</b>
11) Objectifs et calendrier des travaux	
12) Prélèvements effectués sur le terrain	
13) Dénombrements bactériens (rhizobiums et mycorhizes) dans les prélèvements de sol en Laboratoire	
131) Dénombrement et diversité des spores de Glomales (Mycorhizes)	
132) Etat d'infection des principales espèces	
<b>2) Essai Légumineuses OFI 1988</b>	<b>page 10</b>
21) Intérêt du travail	
22) Prélèvements réalisés sur ces espèces	
23) Mesures effectuées à partir des prélèvements réalisés.	
231) Mesure de l'Activité Réductrice de l'Acétylène (ARA)	
232) Estimation du potentiel fixateur d'azote de ces espèces par la technique de dilution isotopique ( $N^{15}$ )	
233) Estimation de l'état mycorhizien des espèces	
<b>2<sup>ème</sup> PARTIE : Travail effectué à Korhogo</b>	<b>page 14</b>
<b>1) Essai de Jachère en milieu paysan (à proximité de l'Aéroport) : mise en place en 1991</b>	<b>page 14</b>
<b>2) Essai Jachère 1990-1995 à la Station de Lataha</b>	<b>page 14</b>
<b>3) Haies vives de légumineuses ligneuses exotiques et locales à la Station de Lataha</b>	<b>page 15</b>
<b>4) Remarques et observations sur quatre</b>	

espèces de savane à ectomycorhizes	page 17
<b>3ème PARTIE : Travail effectué à Bouaké, Station de Kokondekro</b>	<b>page 17</b>
<b>Références</b>	<b>page 18</b>
<b>Annexes</b>	<b>page 19</b>
<b>Annexe 1 : Dispositif de l'essai jachère 1990 d'Oumé</b>	<b>page 19</b>
<b>Annexe 2 : Protocole expérimental pour le dénombrement des populations de rhizobium dans le sol par la méthode NPM</b>	<b>page 20</b>
<b>Annexe 3 : Abaques utilisés pour le dénombrement des populations de rhizobium par la méthode NPM</b>	<b>page 21</b>

## Objet de la mission

Les objectifs de cette mission sont :

- Dans le cadre de l'étude générale menée actuellement en Côte d'Ivoire sur les jachères améliorées à *Acacia mangium* et *Acacia auriculiformis*, notre travail a consisté à développer un volet symbiotique (rhizobium et Mycorhizes) qui viendra s'ajouter aux autres aspects étudiés également au sein des expérimentations retenues qui sont l'essai jachère arborée 1990 à Oumé et l'essai jachère 1990/1995 de la station de Lataha à Korhogo. L'essentiel du travail consiste à dénombrer les populations de rhizobium et de mycorhizes présents dans le sol de ces jachères avant et après la coupe des arbres, ceci afin de voir comment évoluent ces différentes populations microbiennes en fonction du couvert végétal présent.

- Dans le but d'élargir le nombre d'espèces utilisables pour la mise en place de jachères améliorées, des essais ont été réalisées afin d'identifier de nouvelles espèces autres que *Acacia mangium* et *Acacia auriculiformis*, et présentant d'aussi bonnes caractéristiques agroforestières que ces 2 acacias australiens. Sur les espèces retenues par nos collègues de l'IDEFOR/DFO, nous avons prélevé des nodules afin de mesurer leur activité fixatrice d'azote par la mesure de l'activité réductrice de l'acétylène (ARA), des feuilles sur lesquels un dosage du N<sup>15</sup> sera pratiqué afin d'estimer la proportion d'azote fixé par rapport à la quantité d'azote total contenu dans la plante, des fragments de racines afin d'estimer l'état d'infection de ces ■■■■■ par les champignons endomycorhiziens, et des échantillons de sol afin d'apprécier la biodiversité de ces champignons.

## **Remerciements**

Nous remercions nos différents collègues de L'IDEFOR/DFO pour la très bonne organisation de la mission que nous avons effectuée en leur compagnie. Nous tenons tout particulièrement à remercier Messieurs OUALOU, GNAHOUA et OUATTARA avec qui nous avons travaillé à Oumé et Korhogo, mais également Dominique LOUPPE pour son appui logistique tout au long de la mission.

Nous n'oublions pas Monsieur BALLE PITY, Directeur de L'IDEFOR/DFO, avec qui nous avons eu une discussion très fructueuse la veille de notre retour en France.

■

## Déroulement de la mission

- Vendredi 13 Octobre : Arrivée à l'aéroport d'Abidjan.  
: Entretien avec Monsieur Jacques Teissier, Délégué du CIRAD en Côte d'Ivoire.  
: Réunion avec Messieurs Dominique Louppe et Oualou Kollou afin de préciser le programme et de définir le calendrier de la mission.  
: Déplacement sur Oumé.
- Samedi 14 Octobre : Prélèvements d'échantillons de sol et de jeunes racines sur l'ensemble de l'essai Jachère 1990 de la station d'Oumé.
- Dimanche 15 Octobre : Prélèvements de jeunes racines, de feuilles, de nodules et de sol sur un certain nombre d'espèces testées au sein de l'essai Légumineuses OFI (Oxford Forestry Institute) à Oumé.  
: Sur les nodules récoltés, nous avons effectué des mesures de l'Activité Réductrice de l'Acétylène (ARA).  
: Déplacement sur Korhogo.
- Lundi 16 Octobre : Discussion avec NKlo Ouattara sur le programme de notre séjour et visite de la station de Lataha.  
: Prélèvement de nodules et de racines sur de jeunes plants de plusieurs espèces de légumineuses ligneuses cultivées en pépinière.  
: Visite d'un essai de jachère avec de l'*Acacia auriculiformis* en milieu paysan (à proximité de l'aéroport). Prélèvements de feuilles, de nodules, de racines et de sol pour analyses.
- Mardi 17 Octobre : Prélèvements d'échantillons de sol, de jeunes racines et de feuilles sur l'ensemble de l'essai Jachère 1990-1995 de la station de Lataha.  
: Prélèvements de sol, de jeunes racines et de feuilles sur des haies vives de différentes espèces de légumineuses ligneuses présentant un intérêt agroforestier.

: Prospection des champignons ectomycorhiziens dans les reliques de forêt naturelle conservée sur la station de Lataha.

- Mercredi 18 Octobre : Suite des prélèvements sur la station  
: Mesures de l'ARA sur l'ensemble des nodules qui ont été récoltés dans la station.  
: Déplacement sur Bouaké.
- Jeudi 19 Octobre : Visite des parcelles feu dans la station de Kokondekro. Prélèvements de sol et de racines de différentes espèces au sein des 3 traitements étudiés (feu tardif, feu précoce et protection intégrale).  
: Déplacement sur Abidjan.
- Vendredi 20 Octobre : Conditionnement des différents échantillons prélevés au cours de la mission.  
: Réunion avec Monsieur Balle Pity pour faire le bilan de la mission et définir ce qui pourrait être réalisé dans la suite du projet.
- Samedi 21 Octobre : Retour sur Paris, puis Montpellier.

## 1ère PARTIE

### Travail effectué sur la station de Oumé

#### 1) Essai Jachère 1990

**11) Objectifs et calendrier des travaux :** Comme cela a déjà été indiqué au début de ce rapport, l'objectif de ce travail est de suivre l'évolution au cours du temps et des pratiques culturales, des populations de rhizobium au sein de jachères arborées. Les dénombrements des populations de rhizobiums vont être réalisés sur une première série d'échantillons de sol correspondant à la période qui précède la coupe des arbres. Une seconde série d'échantillons sera analysée dans quelques mois (en Octobre 1996) afin de voir comment ces populations bactériennes vont évoluer dans le temps une fois que les arbres auront été coupés (fin Février-début Mars 1996), et suivant la nature des cultures qui auront été mises en place sur les parcelles coupées (c'est à dire du maïs en première culture, et ensuite de l'arachide en seconde culture). L'utilisation en seconde culture de l'arachide qui est une Légumineuse nodulée par des *Bradyrhizobium* comme l'*Acacia mangium* et l'*Acacia auriculiformis*, nous permettra de savoir si entre les 7 traitements étudiés, on observe de grandes variations en terme de nodulation de l'arachide. Ces résultats de nodulation seront comparés avec les dénombrements de rhizobium que nous ferons sur la seconde série d'échantillons de sol.

Pour en terminer avec cette partie, il serait préférable que les dénombrements de rhizobium soient faits avec plusieurs espèces de Légumineuses. En effet, ces dernières n'ont pas toutes les mêmes exigences en terme de nodulation avec rhizobium. Ainsi, si l'on utilise qu'une seule espèce qui s'avère ne pouvoir noduler qu'avec un petit nombre de rhizobium, les dénombrements seront faussement sous-estimés par rapport à la réalité. C'est pourquoi, nous envisageons de tester 4 à 5 espèces différentes.

**12) Prélèvements effectués sur le terrain :** Au sein de cet essai, différents prélèvements de sol ont été réalisés au sein des cinq blocs et de chacun des sept traitements de l'essai (pour le détail des traitements voir annexe 1).

Pour chaque traitement, nous avons prélevé du sol aux quatres coins de la parcelle (à environ 3 m des lisières), et au centre de cette dernière. Les cinq prélèvements ont été mélangés et homogénéisés afin d'avoir un échantillon représentatif de la parcelle.



### **13) Dénombrements de rhizobiums et de mycorhizes dans les prélèvements de sol en Laboratoire :**

Les dénombrements de rhizobiums présents dans les différents échantillons ont été réalisés suivant la technique dite de NPM (Annexe 2). Cela consiste à remettre en suspension 10 g de sol dans 90 ml d'eau stérile. Après une agitation vigoureuse de 10 minutes (200-300 rpm), on prélève 1 ml du mélange pour le verser dans 4 ml d'eau stérile (le prélèvement du mélange doit être parfaitement réalisé car il va conditionner toutes les dilutions qui vont être réalisées par la suite). Après agitation au vortex, chacune des 4 plantes cultivées stérilement dans des tubes en verre sont inoculées avec 1 ml de ce mélange. Le ml restant est utilisé pour préparer la dilution suivante (1 ml dans 4 ml d'eau stérile). L'opération est répétée 6 fois, et pour chaque dilution, on inocule 4 plantes d'une même espèce de Légumineuses (sauf pour la dernière dilution car, dans ce cas, on dispose de suffisamment de mélange pour inoculer 5 plantes). La durée d'incubation des plantes est d'environ 6 semaines dans des chambres de culture. Pour déterminer le nombre de rhizobiums présents dans chaque échantillon de sol analysé, on compte pour chaque dilution, le nombre de plantes nodulées et en se référant à des abaques, on peut ainsi déterminer à combien de rhizobiums cela correspond (Annexe 3). Nous avons également cherché des ectomycorhizes dans les parcelles, mais nos recherches n'ont pas abouti.

#### **131) Dénombrement et diversité des spores de Glomales**

**(Mycorhizes):** Les spores de Glomales présentes dans cent grammes de sol prélevés dans chacune des parcelles de cet essai sont extraites par la méthode du tamisage humide suivi d'une double centrifugation dans un gradient de saccharose. Les spores extraites sont dénombrées par type morphologique à l'aide d'une loupe binoculaire. Le nombre et la diversité des spores de champignons mycorhiziens de chacune des parcelles élémentaires sera ainsi connu.

#### **132) Etat d'infection des principales espèces :**

Dans chaque parcelles élémentaires, 3 prélèvements de racines (de l'espèce plantée ou spontanée) représentant au total 5 à 10 g de matière fraîche sont fixées dans des tubes à hémolyse contenant du GEE (Ducouso, 1991). Ces échantillons sont utilisés pour estimer le taux d'infection par les endomycorhizes des plantes présentes (Philipps et Hayman, 1970 ; Giovanetti et Mosse, 1980). Les fragments de racines des plantes présentes sur le champ avant la reprise de la culture constitue probablement une source d'inoculum très importante. La connaissance de l'état d'infection des espèces de chaque parcelles élémentaires est un complément essentiel de l'estimation de la diversité et du nombre de spores.

## 2) Essai Légumineuses OFI 1988.

### 21) Intérêt du travail

Dans le cadre d'un essai international coordonné par l'Oxford Forestry Institute (OFI) qui a fourni les graines, des parcelles de différentes espèces de légumineuses ligneuses originaires d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud ont été mise en place en 1988 par le CTFT-Côte d'Ivoire. Depuis des mesures ont été faites sur cet essai afin de déterminer qu'elles sont celles qui semblent être les plus intéressantes en terme de potentiel agroforestier. Comme critères retenus par nos collègues de l'IDEFOR-DFO pour effectuer ce choix, on a :

- Un bon cubage en terme de production de biomasse.
- Une bonne régénération de l'espèce après le recépage des arbres.
- Un bon effet fertilisant sur les cultures qui lui sont associées.

C'est ainsi que neuf d'entre elles ont été retenus par les chercheurs de l'IDEFOR-DFO, et c'est pourquoi, à leur demande, nous nous sommes intéressés aux caractéristiques symbiotiques et au potentiel fixateur d'azote de ces espèces. Il s'agit :

- |                               |                                  |                                   |
|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| - <i>Albizzia guachepele</i>  | - <i>Albizzia caribea</i>        | - <i>Enterolobium cyclocarpum</i> |
| - <i>Senna tomaria</i>        | - <i>Ateleia herbert smithii</i> | - <i>Leucaena shannonii</i>       |
| - <i>Caesalpinia velutina</i> | - <i>Pithecellobium dulce</i>    | - <i>Caesalpinia eryostachys</i>  |

### 22) Prélèvements réalisés sur ces espèces

Pour chacune des neuf espèces de Légumineuses que nous avons étudiées, plusieurs prélèvements ont été effectués au sein des parcelles de l'essai (Annexe 4)

- **Prélèvements de nodules** et estimation de la nodulation naturelle de chacune des espèces. A partir des nodules récoltés, des mesures de l'Activité Réductrice de l'Acétylène (l'ARA) ont été effectuées, et les rhizobiums contenus dans les nodules seront piégés en serre.

- **Prélèvements de feuilles** sur lesquels un dosage du N<sup>15</sup> sera pratiqué afin d'estimer la proportion d'azote fixé par rapport à la quantité d'azote total contenu dans les feuilles de l'arbre, sachant que les résultats obtenus dans les feuilles sont généralement représentatif de ce qui existe dans l'arbre entier.

- **Prélèvements de graines** afin de pouvoir déterminer, au cours de tests d'inoculation réalisés au laboratoire, les besoins en rhizobium de chacune de ces neuf espèces. Nous allons avoir également besoin de graines pour les étapes de piégeage en serre des souches de rhizobium contenus dans les nodules prélevés sur les racines des espèces étudiées.

- **Prélèvements de racines** Pour chacune des 9 espèces, un échantillon de racines fines de 1 à 5 g de matière fraîche est prélevé. En partant du tronc, une racine est déterrée jusqu'aux racines fines qui sont alors prélevées. L'échantillon est constitué des prélèvements réalisés sur au moins trois racines d'un même individu. Un seul prélèvement est réalisée par espèce. Les échantillons sont conservés dans des tubes à hémolyse contenant du GEE (Ducouso, 1991).

## 23) Mesures effectuées à partir des prélèvements réalisés.

### 231) Mesure de l'Activité Réductrice de l'Acétylène (ARA) :

\* **Le principe de la mesure de l'ARA** est le suivant : C'est une méthode indirecte qui permet de mesurer l'activité fixatrice d'azote des nodules en mesurant leur activité nitrogénasique, la nitrogénase étant l'enzyme responsable de la fixation d'azote synthétisée par les rhizobiums. La nitrogénase réduit en conditions naturelles l'azote moléculaire  $N_2$  en  $NH_3$ , mais aussi l'acétylène en éthylène. Ainsi l'ARA correspond à la quantité d'éthylène produit par unité de temps.

\* **Sur le terrain**, tous les nodules récoltés sur une même espèce sont placés immédiatement dans un flacon à serum de 120 ml fermé hermétiquement avec un bouchon en caoutchouc maintenu par une capsule à vis. Après avoir extrait 12 ml d'air de chaque flacon à l'aide d'une seringue, on injecte à la place 12 ml d'acétylène pur. Ainsi, la concentration finale d'acétylène dans le flacon est de 10 %. Les flacons sont maintenus à température ambiante. Deux prélèvements gazeux de 5 ml chacun, sont effectués sur chaque flacon, le premier après 30 minutes d'incubation, et le second après 60 minutes. Les échantillons gazeux ainsi prélevés sont conservés dans des tubes Venoject en verre de 10 ml fermés hermétiquement par un bouchon en caoutchouc dans lesquels nous avons préalablement enlevé 6 ml d'air afin d'éviter une surpression lors de l'introduction de l'échantillon gazeux (voir Galiana, 1993).

\* **Au Laboratoire BSFT** de Nogent/Marne, les échantillons gazeux qui ont été récoltés sur le terrain et stockés dans des Venojects sont analysés. L'analyse est faite par chromatographie FID à ionisation de flamme. Les 2 temps d'incubation (30 et 60 minutes) par échantillon correspondent à deux répétitions. Les résultats sont exprimés en  $\mu$ moles d'éthylène produites par heure et par quantité pondérale de nodules.

### 232) Estimation du potentiel fixateur d'azote de ces espèces par la technique de dilution isotopique ( $N^{15}$ ) :

\* Il s'agit d'une **technique non destructrice** qui permet de quantifier le pouvoir fixateur d'azote d'une espèce à partir d'un prélèvement de feuilles dans lesquelles on dose, à l'aide d'un spectromètre de masse, la quantité de  $N^{15}$  présent qui est

directement proportionnelle avec la quantité d'azote atmosphérique fixé par la plante nodulée par rhizobium.

\* **Sur le terrain**, nous avons prélevé des feuilles sur les mêmes arbres où les prélèvements de nodules ont été réalisés. Ces feuilles ont ensuite été séchées à l'étuve (50 °C pendant 72 heures) puis conditionnées en attendant d'être broyées et analysées. A titre de comparaison, des feuilles ont également été prélevées sur des espèces d'arbres non fixateur d'azote.

\* **Les valeurs attendues** sont :

- La teneur dans les feuilles en azote total : dosage effectué par la méthode de Kjeldhal (Bremner et Mulvaney, 1982)

- Le  $\delta N^{15}$  de chacune des espèces qui est proportionnel au potentiel fixateur d'azote de chacune de ces espèces, car plus le  $\delta N^{15}$  est élevé, plus l'espèce est fixatrice d'azote.

- Il est possible de calculer le pourcentage d'azote dérivé du  $N_2$  atmosphérique (Ndfa %) selon l'équation suivante :

$$Ndfa \% = 100 ( \delta N^{15}_{nf} - \delta N^{15}_f ) / ( \delta N^{15}_{nf} - \epsilon_{fix} )$$

où  $\delta N^{15}_{nf}$  est l'abondance isotopique des espèces non fixatrices d'azote;  $\delta N^{15}_f$  l'abondance isotopique des espèces de Légumineuses étudiées; et  $\epsilon_{fix}$  ou le coefficient d'enrichissement, correspond au  $\delta N^{15}$  des espèces de Légumineuses étudiées, cultivées sur un milieu minéral sans azote.  $\epsilon_{fix}$  doit être déterminé expérimentalement.

Nous pourrions ainsi classer les différentes espèces étudiées en fonction de leur efficacité à fixer l'azote atmosphérique.

### 233) Estimation de l'état mycorhizien des espèces

Les échantillons racinaires fixés dans le GEE sont colorés au bleu Trypan dans le lactophénol suivant la technique décrite par Phillips et Hayman (1970) pour la mise en évidence des endomycorhizes. L'intensité de l'infection par les endomycorhizes est estimée en utilisant la méthode décrite par Giovannetti et Mosse (1980). Les observations ont été réalisées avec un microscope optique aux grossissements 40 et 100. Les fragments de racines dilacérés montés entre lame et lamelles dans du PVLG (Morton, 1993) sont conservés comme échantillon de référence.

\* **Les résultats obtenus** sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Présence et intensité de l'infection endomycorhiziennes dans les racines de 9 espèces à potentiel agroforestier élevé dans un essai mis en place à Oumé en 1990 et remarques sur les observations réalisées.

Espèce	% MVA	Remarques
<i>Albizzia caribea</i>	Traces	Parasites fongiques abondants
<i>Albizzia guachepele</i>	100 %	Très infectées, bcp d'arbuscules
<i>Ateleia herbert smithii</i>	100 %	Vésicules, Hyphes, Pelotons intracellulaires
<i>Caesalpinia eryostachys</i>	40 %	Mycélium, Pelotons
<i>Caesalpinia velutina</i>	90 %	Hyphes, Vésicules, Pelotons + Parasite sp.
<i>Entherolobium cyclocarpum</i>	20 %	NÉMATODES TRÈS ABONDANTS
<i>Leucena shanonii</i>	90 %	Infection très dense
<i>Pithecelobium dulce</i>	Traces	Mycélium + rares spores extra-racine
<i>Senna atonaria</i>	Traces	Pb de nécroses d'origine inconnue

Des endomycorhizes ont été observées sur toutes les espèces retenues dans cette étude. Nous avons constatés sur certaines espèces, la présence de parasites fongiques et/ou de nématodes ou de nécroses en quantité plus ou moins importantes.

L'importance de l'endomycorhization pour ces espèces à fort potentiel agroforestier est indiscutable.

#### \* **Perspectives**

Deux axes de recherche principaux peuvent être dégagés afin d'utiliser au mieux les espèces choisies :

- Evaluer la mycotrophie de ces espèces afin de connaître leur besoins en la matière.
- Evaluer le rôle des mycorhizes, notamment dans la nutrition en phosphore et dans la protection contre les pathogènes racinaires de ces espèces.

## 2ème PARTIE

### Travail effectué à Korhogo

#### 1) Essai de Jachère en milieu paysan (à proximité de l'Aéroport) : Mise en place en 1991

Il s'agit d'un **champ qui a été divisée en trois parcelles**, la première correspondant à une jachère d'*Acacia auriculiformis*, la seconde à une jachère herbacée spontanée et la troisième qui continue à être en culture depuis 1991, année de la mise en place de l'essai. Il est prévu que l'ensemble des parcelles soit remis en culture avec du maïs en 1996, ceci afin d'estimer l'effet du type de jachère sur le rendement des cultures.

Comme nous l'avons fait pour l'essai Jachère 90 à Oumé, et l'essai Jachère 1990-1995 de Korhogo, **nous avons prélevé du sol** et des racines au sein de chacun des 3 traitements de la parcelle, selon ■ même protocole que celui décrit précédemment. **Les populations de rhizobium** de chaque prélèvement **seront dénombrées** par la méthode NPM. En parallèle aux prélèvements de sol, nous avons estimé la nodulation spontanée des *Acacia auriculiformis*, et sur les nodules récoltés, nous avons effectué des mesures d'ARA. L'état d'endo et d'ectomycorhization spontané de l'*Acacia auriculiformis* a été estimé comme précédemment décrit. Le nombre et la nature des spores de Glomales observés dans chacun des traitements sont également présentés. L'objectif étant de montrer : l'influence du couvert végétal sur les populations de champignons endomycorhiziens; et le potentiel infectieux des sols à la reprise de la culture.

#### 2) Essai Jachère 1990-1995 : Station de Lataha

Cet essai comprend quatre blocs et trois traitements par bloc : un traitement *Gmelina arborea*, un traitement *Eucalyptus camaldulensis*, et un traitement *Acacia auriculiformis*. Comme nous l'avons fait à Oumé, **différents prélèvements de sol** ont été réalisés au sein des trois traitements de chaque bloc. La méthode de prélèvement du sol est la même que celle qui a été décrite précédemment.

Les **dénombrements de rhizobium** dans les sols de Korhogo ont été réalisés suivant le même protocole que celui décrit en détail dans le chapitre consacré à Oumé.

Les **prélèvements de racines fines** sur ces trois espèces, pour l'observation de l'endomycorhization, ont été réalisées suivant le même protocole que celui décrit en détail dans le chapitre consacré à Oumé.

### 3) Haies vives de légumineuses ligneuses exotiques et locales : Station de Lataha

Au travers des différents essais de haies vives et de la pépinière qui ont été mises en place sur la station, nous avons recherché des nodules et des mycorhizes sur les espèces les plus intéressantes pour nos collègues de l'IDEFOR-DFO, ceci afin de mesurer l'ARA et l'état d'endomycorhization. Nous avons également prélevé des feuilles sur les arbres nodulés afin d'y doser le N<sup>15</sup>, ainsi que des graines afin de pouvoir mettre en place au laboratoire et en serre des essais.

Les espèces étudiées sont :

- |                                |                                   |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| - <i>Acacia farnesiana</i>     | - <i>Albizia zygia</i>            |
| - <i>Acacia polyacantha</i>    | - <i>Ateleia herbert smithii</i>  |
| - <i>Pterocarpus erinaceus</i> | - <i>Dichrostachys cinerea</i>    |
| - <i>Prosopis africana</i>     | - <i>Albizia guachepele</i>       |
| - <i>Albizia adiantifolia</i>  | - <i>Entada abyssinica</i>        |
| - <i>Dalbergia sissoo</i>      | - <i>Acacia auriculiformis</i>    |
| - <i>Acacia dudgeoni</i>       | - <i>Azizelia africana</i>        |
| - <i>Anogeius leiocarpus</i>   | - <i>Cassia sieberiana</i>        |
| - <i>Citrus sp.</i>            | - <i>Eucalyptus camaldulensis</i> |

Comme lors de l'essai Légumineuses OFI d'Oumé, les nodules récoltés sont conservés afin de piéger en serre les rhizobiums présents.

Des prélèvements de sols ont également été réalisés afin d'effectuer des piègeages de champignons endomycorhiziens.

L'état d'infection endomycorhizien des différentes espèces étudiées est présenté dans les tableaux suivants :

Tableau 2 : Présence et intensité de l'infection endomycorhizienne dans les racines d'espèces agroforestières élevés en pépinières à la station de Korhogo en 1995.

Espèce	% MVA	Remarques
<i>Acacia dudgeoni</i>	80 %	Vésicules, Arbuscules, Hyphes pelotonés
<i>Acacia polyacantha</i>	100 %	Bcp Hyphes et Vésicules
<i>Albizia adiantifolia</i>	90 %	Arbuscules localement très denses
<i>Albizia guachepele</i>	60 %	RAS
<i>Ateleia herbert smithii</i>	100 %	bcp Arbuscules, hyphes pelotonés
<i>Dichrostachys cinerea</i>	90 %	Spores, Vesicules, Hyphes, Arbuscules "baobab"
<i>Entada abyssinica</i>	50 %	Spores intraracinaires
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	50 %	Bcp dans les racines fines, peu dans les grosses
<i>Pterocarpus erinaceus</i>	50 %	Infection localement très denses

Tableau 3 : Présence et intensité de l'infection endomycorhizienne dans les racines d'espèces agroforestières plantées à la station de Korhogo et âgées de 2, 4 ou 6 ans.

Espèce	Age	% MVA	Remarques
<i>Acacia auriculiformis</i>	2 ans	80 %	Bcp Hyphes extraracinaires, Vésicules et spores
<i>Acacia dudgeoni</i>	2 ans	0 %	Pas d'infection
<i>Acacia farnesiana</i>	2 ans	40 %	Surtout sur racines fines, Parasites
<i>Acacia polyacantha</i>	2 ans	100 %	Vésicules et hyphes très réguliers
<i>Afzelia africana</i>	4 ans	Trâces	Ectomycorhizes, Réseau Hartig, rares vésicules
<i>Albizzia guachepele</i>	2 ans	60 %	Vésicules et hyphes
<i>Albizzia zygia</i>	4 ans	80 %	localement très dense, spores extraracinaires
<i>Anogeius leocarpus</i>	6 ans	80 %	Bcp vésicules et hyphes
<i>Ateleia herbert smithii</i>	2 ans	100 %	Infection très régulière et peu dense
<i>Cassia sieberiana</i>	4 ans	80 %	Bcp mycélium, rare vésicules et arbuscules
<i>Citrus sp.</i>	4 ans	100 %	Infection très dense et régulière
<i>Dalbergia sissoo</i>	4 ans	90 %	100 % dans les racines fines
<i>Dychrostachys cinerea</i>	4 ans	80 %	infection localement très dense
<i>Prosopis africana</i>	6 ans	80 %	Bcp vésicules et hyphes
<i>Pterocarpus erinaceus</i>	6 ans	Trâces	infections rares très localisées

Un seul échantillon ne présentait pas de structures endomycorhiziennes ; *Acacia dudgeoni* âgé de deux ans à Korhogo. Il est très probable que cette espèce soit capable de former des endomycorhizes au champ. En effet, des structures endomycorhiziennes ont été trouvées sur cette espèce en pépinière comme d'ailleurs, sur toutes les autres espèces d'*Acacia* où elles ont été recherchées ; l'observation doit d'être précisée.

Des traces d'infection endomycorhiziennes ont été trouvées dans les racines d'*Afzelia africana*, espèce décrite à ectomycorhizes. Cela est en accord avec l'observation réalisée en Guinée par Thoen et Ducouso (1989) sur des semis de cette espèce. Il semblerait donc que les endomycorhizes puissent jouer un rôle au début de la croissance de cet arbre. Des observations similaires ont déjà été faites, notamment chez les *Eucalyptus*.

Pour ce qui concerne les autres espèces, la présence d'endomycorhizes est indiscutable. Elle confirme l'importance de cette symbiose pour les espèces à fort potentiel agroforestier en Côte d'Ivoire. Toutefois, la valeur du %MVA que nous présentons n'est que le résultat d'une observation dans des conditions particulières. En aucune manière, ce chiffre peut être mis en relation avec la mycotrophie des espèces.

Enfin, en perspective de cette étude, connaissant l'importance des endomycorhizes dans le genre *Citrus*, il serait très intéressant d'envisager des expériences d'inoculation et de remobilisation/transfert des éléments dans des systèmes associants des espèces de ce genre (e.g. en haie vive) avec des cultures.



#### **4) Remarques et observations sur quatre espèces de savane à ectomycorhizes**

*Afzelia africana*, *Anthonotha crassifolia*, *Isobertia doka* et *Uapaca togoensis* sont des espèces qui ont été décrites comme étant à ectomycorhizes, notamment dans les pays voisins de la Côte d'Ivoire : Sénégal, Guinée et Burkina faso. Dans un premier temps, nous nous sommes limité à préciser l'état mycorhizien de ces espèces dans les parcelles de forêt naturelle conservées sur la station expérimentale de Korhogo et à décrire les champignons potentiellement mycorhiziens récoltés sous ces espèces à la fin de la saison des pluies et à définir quelques axes de recherche pour ces espèces.

### **3ème PARTIE**

#### **Travail effectué à Bouaké Station de Kokondekro**

Nous avons visité l'essai mis en place en 1946 à la station de Kokondekro par A. Aubreville afin d'étudier les effets des feux de brousse sur l'évolution de la végétation. On y trouve un dispositif très simple avec une parcelle feu tardif, une parcelle feu précoce et une parcelle témoin. De très nombreuses données ont été recueillies sur ces trois parcelles (botanique, macrofaune du sol, ...). Il nous a été demandé de réaliser une approche microbiologique qui va consister à évaluer quantitativement mais aussi qualitativement les populations de rhizobium et de mycorhizes présents. Les méthodologies suivies ont déjà été décrites.

### **4ème PARTIE**

#### **Planning futur**

Nous devrions avoir l'ensemble de la première série de résultats d'ici la fin de l'année 1996. Il serait souhaitable qu'un stagiaire puisse prendre en charge, sous la bienveillance de nos collègues de l'Idéfor, les différentes numérations de rhizobium et de mycorhizes dans les jachères étudiées de Oumé et de Korhogo.

## Références

- Bremner JM, Mulvaney CS.** 1982. Nitrogen total. In *Methods of soil analysis*, part.2, Page AL ed. Am.Soc.Agrom., Madison, Wisconsin, pp.595-624.
- Ducousso M.** 1991. Importance des symbioses racinaires pour l'utilisation des Acacias d'Afrique de l'Ouest. Thèse, Université Claude Bernard, Lyon I. CIRAD-ISRA Editions, Nogent sur Marne, France et Dakar, Sénégal, 205 pages.
- Galiana A.** 1993. Etude de la nodulation *in situ* chez quatre arbres fixateurs d'azote au sein de l'essai "Légumineuses arborées 1987" de la Sangoué et dans d'autres essais mis en place en Côte d'Ivoire. Rapport de mission d'appui au projet "Développement des recherches menées en zone de forêt dense humide en agroforesterie : application à la Côte d'Ivoire", 18 au 28 Novembre 1992, 47 pages.
- Giovanetti M and Mosse B.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 498-500.
- Morton J.** 1993. Problems and solutions for integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and the study of endomycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza*, 2, 97-109.
- Phillips JM and Hayman DS.** 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Britain Mycology Society*, 55, 158-161.
- Thoen D et Ducousso M.** 1989. Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. *Bois et Forêts des Tropiques*, 221, 45-63.

# Annexes

## Annexe 1 : Dispositif de l'essai jachère 1990 d'Oumé

		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
		Culture continue	Jachère spontanée cult : 2/3 puis 1,5/3	Jachère spontanée cult : 2/6	Acacia mangium expl à 3 cult : 1,5/3	Acacia mangium expl à 6 cult : 2/6	Acacia auriculiformis expl à 3 cult : 1,5/3	Acacia auriculiformis expl à 6 cult : 2/6
1990	Arbres	0	0	0	plant A. m.	plant A. m.	plant A. m.	plant A. m.
	Cultures	igname	igname	igname	igname	igname	igname	igname
1991	Arbres	0	0	0	A.m.	A.m.	A.a.	A.a.
	Cultures	riz/arachide	riz/arachide	riz/arachide	riz/jachère	riz/jachère	riz/jachère	riz/jachère
1992	Arbres	0	0	0	A.m.	A.m.	A.a.	A.a.
	Cultures	maïs/arachide	jachère	jachère	jachère	jachère	jachère	jachère
1993	Arbres	0	0	0	expl + plant	A.m.	expl + plant	A.a.
	Cultures	igname	igname	jachère	igname	jachère	igname	jachère
1994	Arbres	0	0	0	A.m.	A.m.	A.a.	A.a.
	Cultures	riz/arachide	riz/jachère	jachère	riz/jachère	jachère	riz/jachère	jachère
1995	Arbres	0	0	0	A.m.	A.m.	A.a.	A.a.
	Cultures	maïs/arachide	jachère	jachère	jachère	jachère	jachère	jachère
1996	Arbres	0	0	0	0 (expl.)	0 (expl)	0 (expl.)	0 (expl)
	Cultures	maïs	maïs	maïs	maïs	maïs	maïs	maïs

A.m. = Acacia mangium ; A.a. = Acacia auriculiformis ; 0 = pas de culture ou pas d'arbres plantés

expl = exploitation des arbres ; expl à 3 = exploitation des arbres à 3 ans

plant = semis naturel ou plantation de jeunes arbres

cult = durée des cultures / durée culture + jachère

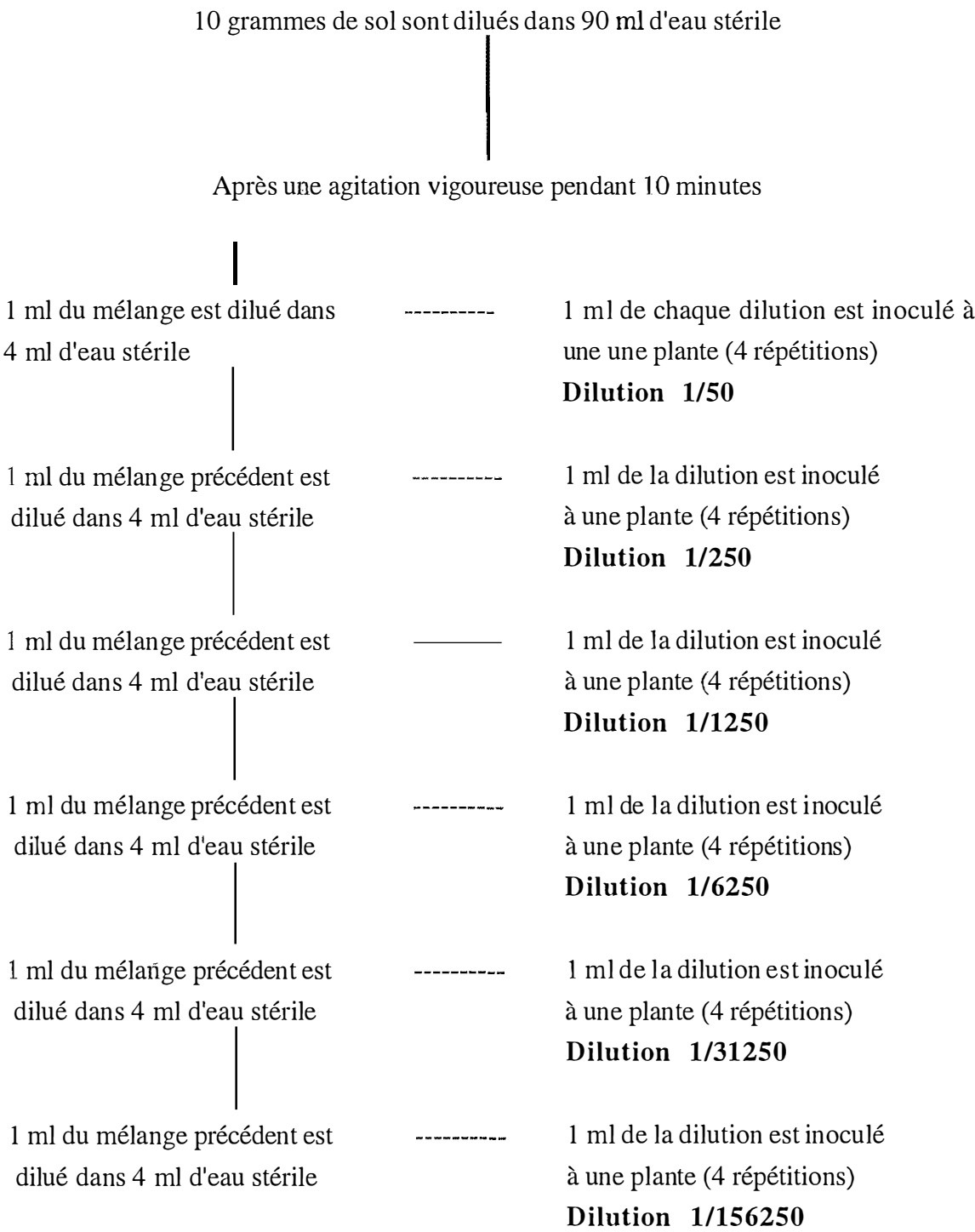
En "surligné", les nouvelles propositions de modification du protocole.

En 1996, nous avons renoncé à replanter les traitements T4 et T6 car cela complique trop le protocole.

Cultures 1996 : Les parcelles seront divisées en deux, sur une moitié sera cultivé de l'igname, et sur l'autre moitié ce sera du maïs en premier cycle et de l'arachide en deuxième cycle.

Une répétition de l'essai ne sera pas exploitée pour étudier la dynamique de la végétation plantée (acacias) et spontanée.

**Annexe 2 : Protocole expérimental pour le dénombrement  
des populations de rhizobium dans le sol par la  
méthode NPM**



**Annexe 3 : Abaques utilisés pour les dénombrements des populations de rhizobium par la méthode NPM**

Nombre de plantes nodulées sur les 4 testées pour chaque dilution réalisée						Nombre de rhizobiums présents dans l'échantillon testé non dilué
Niveau de dilution de l'échantillon initial						Estimation
1/50	1/250	1/1250	1/6250	1/31250	1/156250	
1	0	0	0	0	0	1.1 x 10 <sup>1</sup>
2	0	0	0	0	0	2.6 x 10 <sup>1</sup>
3	0	0	0	0	0	4.6 x 10 <sup>1</sup>
4	0	0	0	0	0	8.0 x 10 <sup>1</sup>
0	1	0	0	0	0	1.0 x 10 <sup>1</sup>
1	1	0	0	0	0	2.3 x 10 <sup>1</sup>
2	1	0	0	0	0	4.0 x 10 <sup>1</sup>
3	1	0	0	0	0	6.5 x 10 <sup>1</sup>
0	2	0	0	0	0	2.1 x 10 <sup>1</sup>
1	2	0	0	0	0	3.5 x 10 <sup>1</sup>
2	2	0	0	0	0	5.5 x 10 <sup>1</sup>
3	2	0	0	0	0	8.7 x 10 <sup>1</sup>
0	3	0	0	0	0	3.0 x 10 <sup>1</sup>
1	3	0	0	0	0	4.9 x 10 <sup>1</sup>
2	3	0	0	0	0	7.2 x 10 <sup>1</sup>
3	3	0	0	0	0	11.3 x 10 <sup>1</sup>
4	1	0	0	0	0	11.4 x 10 <sup>1</sup>
4	2	0	0	0	0	16.2 x 10 <sup>1</sup>
4	3	0	0	0	0	24.2 x 10 <sup>1</sup>
4	4	0	0	0	0	40.4 x 10 <sup>1</sup>
4	0	1	0	0	0	10.8 x 10 <sup>1</sup>
4	1	1	0	0	0	15.1 x 10 <sup>1</sup>
4	2	1	0	0	0	21.5 x 10 <sup>1</sup>
4	3	1	0	●	0	32.8 x 10 <sup>1</sup>
4	0	2	0	0	0	14.1 x 10 <sup>1</sup>

Niveau de dilution de l'échantillon initial						Estimation
1/50	1/250	1/1250	1/6250	1/31250	1/156250	
4	1	2	0	0	0	$19.6 \times 10^1$
4	2	2	0	0	0	$28.3 \times 10^1$
4	3	2	0	0	0	$43.6 \times 10^1$
4	0	3	0	0	0	$18.1 \times 10^1$
4	1	3	0	0	0	$25.2 \times 10^1$
4	3	2	0	0	0	$43.6 \times 10^1$
4	2	3	0	0	0	$36.4 \times 10^1$
4	3	3	0	0	0	$56.5 \times 10^1$
4	4	1	0	0	0	$5.7 \times 10^2$
4	4	2	0	0	0	$8.1 \times 10^2$
4	4	3	0	0	0	$12.1 \times 10^2$
4	4	4	0	0	0	$20.2 \times 10^2$
4	4	0	1	0	0	$5.4 \times 10^2$
4	4	1	1	0	0	$7.5 \times 10^2$
4	4	2	1	0	0	$10.8 \times 10^2$
4	4	3	1	0	0	$16.4 \times 10^2$
4	4	0	2	0	0	$7.10 \times 10^2$
4	4	1	2	0	0	$9.80 \times 10^2$
4	4	2	2	0	0	$14.1 \times 10^2$
4	4	3	2	0	0	$21.8 \times 10^2$
4	4	0	3	0	0	$9.1 \times 10^2$
4	4	1	3	0	0	$12.6 \times 10^2$
4	4	2	3	0	0	$18.2 \times 10^2$
4	4	3	3	0	0	$28.2 \times 10^2$
4	4	4	1	0	0	$2.9 \times 10^3$
4	4	4	2	0	0	$4.1 \times 10^3$
4	4	4	3	0	0	$6.0 \times 10^3$
4	4	4	4	0	0	$10.1 \times 10^3$
4	4	4	0	1	0	$2.7 \times 10^3$
4	4	4	1	1	0	$3.8 \times 10^3$
4	4	4	2	1	0	$5.4 \times 10^3$
4	4	4	3	1	0	$8.2 \times 10^3$
4	4	4	0	2	0	$3.5 \times 10^3$
4	4	4	1	2	0	$4.9 \times 10^3$
4	4	4	2	2	0	$7.1 \times 10^3$
4	4	4	3	2	0	$10.9 \times 10^3$
4	4	4	0	3	0	$4.5 \times 10^3$
4	4	4	1	3	0	$6.3 \times 10^3$
4	4	4	2	3	0	$9.1 \times 10^3$
4	4	4	3	3	0	$14.1 \times 10^3$
4	4	4	4	1	0	$14.3 \times 10^3$
4	4	4	4	2	0	$20.3 \times 10^3$
4	4	4	4	3	0	$30.2 \times 10^3$

Niveau de dilution de l'échantillon initial						Estimation
1/50	1/250	1/1250	1/6250	1/31250	1/156250	
4	4	4	4	4	0	50.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	1	13.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	1	18.8 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	1	26.9 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	3	1	41.0 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	2	17.7 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	2	24.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	2	35.3 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	3	2	54.4 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	3	22.6 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	3	31.4 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	3	45.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	1	13.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	1	18.8 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	1	26.9 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	3	1	41.0 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	2	17.7 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	2	24.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	2	35.3 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	3	2	54.4 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	0	3	22.6 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	1	3	31.4 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	2	3	45.5 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	3	3	70.6 x 10 <sup>3</sup>
4	4	4	4	4	1	7.1 x 10 <sup>4</sup>
4	4	4	4	4	2	10.1 x 10 <sup>4</sup>
4	4	4	4	4	3	15.1 x 10 <sup>4</sup>
4	4	4	4	4	4	25.2 x 10 <sup>4</sup>
4	4	4	4	4	5	> 35.5 x 10 <sup>4</sup>